

501,233

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
17 juillet 2003 (17.07.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/058317 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **G02B 21/26**

Michel [FR/FR]; 16, rue Adolphe Thiers, F-13001 Mar-
seille (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR03/00045

(74) Mandataires : **BECKER, Philippe** etc.; Cabinet Becker
et Associés, 35, rue des Mathurins, F-75008 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international : 9 janvier 2003 (09.01.2003)

(81) État désigné (national) : US.

(25) Langue de dépôt : français

(84) États désignés (régional) : brevet européen (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,
IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/00245 10 janvier 2002 (10.01.2002) FR

Publiée :
— avec rapport de recherche internationale

(71) Déposant : **TROPHOS** [FR/FR]; Parc Scientifique Lu-
miny-Case 931, F-13288 Marseille Cedex 9 (FR).

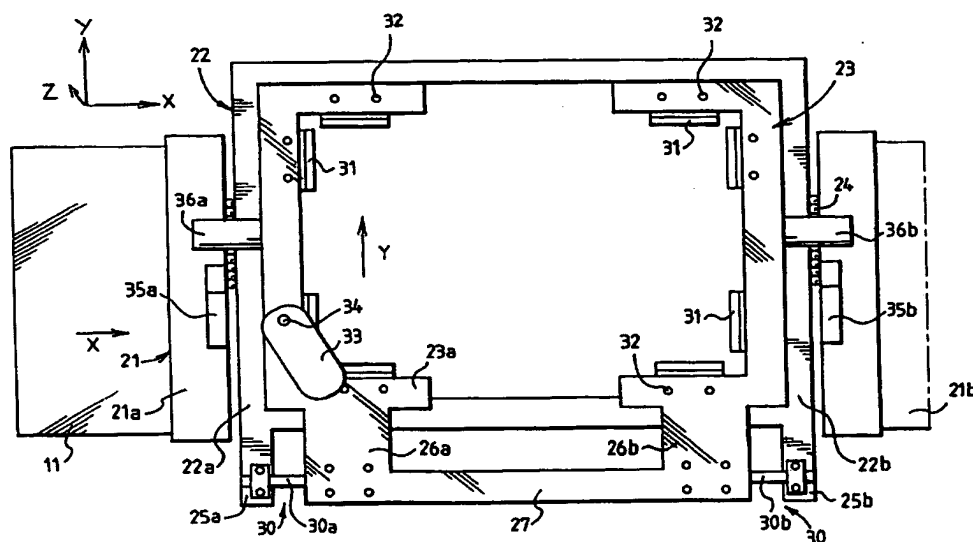
En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : **DELAAGE,**

(54) Title: DEVICE FOR POSITIONING A PLATE USED FOR ANALYZING SAMPLES ON AN EXAMINATION DEVICE

(54) Titre : DISPOSITIF DE POSITIONNEMENT D'UNE PLAQUE D'ANALYSE D'ECHANTILLONS SUR UN DISPOSITIF
D'OBSERVATION



(57) Abstract: The invention relates to a device for positioning a plate used for analyzing biological samples on an examination device, comprising an examination lens and a housing provided with a plate-supporting array (20). Said array comprises a first frame (21) and a second frame (22) which are slidingly movable perpendicular to the essentially vertical axis of examination and each of which is movable perpendicular to the moving direction of the other frame. The inventive array also comprises a third frame (23) held in place by the second frame (22) by means of holding means (30), blocking said third frame perpendicular to the axis of examination while being freely movable in a vertical direction.

[Suite sur la page suivante]

WO 03/058317 A1



(57) Abrégé : L'invention concerne un dispositif de positionnement d'une plaque d'analyse d'échantillons biologiques sur un dispositif d'observation comportant un objectif d'observation et un châssis muni d'un ensemble (20) de support de la plaque. Cet ensemble comprend un premier cadre (21) et un deuxième cadre (22) déplaçables à coulissement dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation supposé vertical, les premier et deuxième cadres étant déplaçables chacun selon une direction perpendiculaire à la direction de déplacement de l'autre cadre, et un troisième cadre (23) supporté par le deuxième cadre (22) par des moyens (30) de maintien bloquant ledit troisième cadre dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation, tout en laissant libre le déplacement dans un plan vertical.

DISPOSITIF DE POSITIONNEMENT D'UNE PLAQUE D'ANALYSE D'ECHANTILLONS SUR UN DISPOSITIF D'OBSERVATION

La présente invention concerne un dispositif de positionnement d'une
5 plaque ou autre support comportant des échantillons sur un dispositif
d'observation ou d'analyse, permettant l'observation ou l'analyse séquentielle de
plusieurs échantillons disposés côte à côte sur la plaque, ou de plusieurs régions
d'un même échantillon.

La présente invention vise à faciliter l'analyse numérique rapide
10 d'objets de grande taille par des capteurs CCD. Ces derniers ont des dimensions
limitées (5 à 7 mm) et la lecture numérique à haute résolution d'objets de 10 cm
ou plus nécessite la répétition des images dans des conditions de
reproductibilité, parfois avec un raccordement pixel à pixel. La lecture à haute
résolution signifie également une faible profondeur de champ, incompatible avec
15 les déformations inévitables de l'objet, qu'il s'agisse d'une plaque (ou lame) de
verre ou d'une plaque de culture alvéolée.

La demande WO01/88593 décrit un procédé permettant le maintien
de la mise au point sur un dispositif d'analyse, au prix d'un jeu latéral entre
l'échantillon et son support. Un tel dispositif est donc incompatible avec un
20 raccordement pixel à pixel des images. Un tel dispositif ne permet pas non plus,
de manière appropriée, l'enregistrement de cinétiques d'évolution d'une image.
D'autres dispositifs, plus classiques, sont conçus pour maintenir fixe le support
d'échantillon, autorisant la réalisation de cinétiques et un raccordement éventuel
pixel à pixel. Néanmoins, ces dispositifs ne possédant pas de mobilité dans l'axe
25 d'observation, ils ne permettent pas de réaliser une mise au point automatique
de l'objectif sur les échantillons.

Les dispositifs d'analyse décrits dans l'art antérieur présentent donc
des inconvénients qui résident dans l'absence de reproductibilité de la lecture et
dans l'incompatibilité avec le balayage rapide de multiples échantillons, par
30 exemple lorsqu'une même plaque doit être analysée à différents temps pour
effectuer de véritables cinétiques sur des cellules ou autres échantillons
individuels repérés par les numéros de pixels sur chaque image. Avec les

dispositifs antérieurs, il ne peut être garanti que les cellules analysées sont les mêmes d'une lecture à l'autre. Cette imprécision peut dépasser 100 microns, ce qui est excessif pour les applications en cinétique. De plus, les plaques d'analyse utilisées comportent le plus souvent des défauts de planéité de leur face inférieure formant les fonds des puits, de telle sorte que ces défauts font varier la distance entre l'objectif et l'échantillon à analyser et empêchent le maintien de la mise au point.

Compte tenu de ces imprécisions, il est nécessaire pour procéder à l'observation complète d'une plaque ou d'échantillons de taille importante, de corriger fréquemment la mise au point de l'objectif pour compenser la variation de cette distance et/ou de procéder à des corrections de positionnement horizontal pour garder le cadrage de l'image sur le capteur.

Cette nécessité de procéder fréquemment à des réglages, soit de la mise au point de l'objectif, soit de positionnement, réduit la vitesse d'acquisition des images des échantillons et peut rendre impossible la lecture haute résolution.

L'invention a pour but d'éviter ces inconvénients. Elle propose maintenant un dispositif qui permet d'assurer à la fois un positionnement correct d'une plaque (ou autre support) d'analyse devant un objectif, de reproduire ce positionnement lors de mesures répétées, d'assurer un déplacement contrôlé de la plaque, et de conserver une mise au point. La présente invention fournit ainsi un dispositif de positionnement de supports d'échantillons par rapport à un objectif d'analyse, qui permet d'effectuer des mesures reproductibles et rapides d'échantillons de grande dimension et/ou de pluralités d'échantillons. L'invention concerne également tout dispositif d'analyse incorporant un tel dispositif de positionnement.

L'invention a donc pour objet un dispositif de positionnement d'une plaque comportant un ou des échantillons (ou adaptée à recevoir un ou des échantillons) sur un dispositif d'observation ou d'analyse comportant un objectif d'observation ou d'analyse d'au moins une partie d'un échantillon suivant un axe

d'observation depuis une face d'observation de la plaque et un châssis muni d'un ensemble de support de la plaque, caractérisé en ce que l'ensemble de support comprend :

- un premier cadre déplaçable à coulissement dans un plan
5 perpendiculaire à l'axe d'observation,
 - un deuxième cadre supporté par le premier cadre et déplaçable à coulissement dans ledit plan perpendiculaire à l'axe d'observation, les premier et deuxième cadres étant déplaçables chacun selon une direction perpendiculaire à la direction de déplacement de l'autre cadre, et
 - 10 - un troisième cadre supporté par le deuxième cadre par des moyens de maintien de ce troisième cadre bloquant ledit troisième cadre dans un plan essentiellement perpendiculaire à l'axe d'observation, tout en laissant libre le déplacement du troisième cadre essentiellement selon l'axe d'observation, ledit troisième cadre étant pourvu de moyens de blocage de la plaque.
 - 15
- Suivant des modes particuliers de réalisation de l'invention :
- l'ensemble de support comporte des moyens d'immobilisation
verticale du troisième cadre pour la mise en place de la plaque d'analyse,
 - le dispositif comporte des moyens d'asservissement de la position
20 verticale de la face d'observation de la plaque d'analyse par rapport à l'objectif,
 - les moyens de maintien du troisième cadre comprennent au moins une lame ressort mince formant un pivot, située préférentiellement dans le plan d'observation, ladite lame ressort étant reliée respectivement au deuxième cadre et au troisième cadre,
 - 25 - la ou les lames ressort formant un pivot s'étendent de préférence perpendiculairement à la direction de déplacement du second cadre,
 - de façon alternative, les moyens de maintien du troisième cadre comprennent, d'une part, un axe d'articulation monté entre les deuxième et troisième cadres, s'étendant de préférence perpendiculairement à la direction de
30 déplacement du second cadre et, d'autre part, au moins un ressort de torsion interposé entre lesdits deuxième et troisième cadres,

- le déplacement du troisième cadre essentiellement selon l'axe d'observation s'effectue généralement dans un plan vertical, et selon un angle de pivotement limité, c'est-à-dire généralement inférieur à environ $0,5^\circ$, qui est déterminé essentiellement par la position de la plaque sur l'objectif,

5 - les moyens de blocage de la plaque sont formés par des sabots d'appui répartis sur le pourtour interne du troisième cadre et par une came montée sur le troisième cadre et déplaçable par pivotement entre une position escamotée et une position en saillie à l'intérieur du troisième cadre pour bloquer la plaque,

10 - la came de blocage de la plaque comporte un moyen d'appui sur le piétement de la plaque, par exemple un moyen réglable, tel qu'une vis, dont la tête ou la pointe peut reposer sur le piétement de la plaque,

 - une partie au moins des sabots d'appui, particulièrement ceux disposés sur les cotés du cadre opposés à la came de blocage, comportent un
15 évidement destiné à recevoir le piétement de la plaque,

 - les moyens d'immobilisation du troisième cadre sont formés par deux butées opposées, montées chacune sur un côté du premier cadre s'étendant parallèlement à la direction de déplacement du second cadre et par deux pattes opposées et fixées chacune perpendiculairement à un côté du
20 troisième cadre s'étendant parallèlement à ladite direction, chaque butée comportant un pan incliné destiné à coopérer avec l'extrémité libre de la patte correspondante lors du déplacement dans cette direction des deuxième et troisième cadres,

 - les moyens d'asservissement sont formés par une entretoise fixe par
25 rapport à l'objectif et présentant une surface d'appui de la face d'observation de la plaque,

 - les moyens d'asservissement sont formés par un système de sustentation magnétique ou piézoélectrique de la plaque,

 - le troisième cadre est ouvert ou fermé,

30 - les déplacements du premier et du second cadre sont motorisés.

L'invention concerne également un dispositif d'observation ou d'analyse d'échantillons comprenant un dispositif de positionnement d'une plaque tel que décrit ci-avant. Le dispositif d'observation ou d'analyse comporte avantageusement une source d'illumination d'au moins une partie d'un échantillon et des moyens d'acquisition d'une image.

Un dispositif d'observation ou d'analyse selon l'invention comporte typiquement un objectif d'observation ou d'analyse d'au moins une partie d'un échantillon suivant un axe d'observation depuis une face d'observation de la plaque et un ensemble de support de cette plaque tel que décrit ci-avant, adapté pour assurer un déplacement relatif entre la plaque et l'axe d'observation dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation, mais laissant libre le déplacement le long de l'axe d'observation supposé vertical. Il comporte en outre des moyens d'illumination d'au moins une partie d'un échantillon et des moyens d'acquisition d'une image en sortie de l'objectif.

La source d'illumination peut être une lampe, un laser ou un ensemble de diodes électroluminescentes.

Pour procéder à l'observation ou à l'analyse des échantillons, la plaque est disposée au-dessus ou au-dessous de l'objectif du dispositif, de préférence au dessus, dont l'axe est supposé vertical. L'observation s'effectue au travers du fond de chaque puits, c'est à dire au travers de la face inférieure de la plaque, cette face inférieure constituant la face d'observation, ou directement au-dessus de l'échantillon. Les échantillons sont amenés un à un au regard de l'objectif par déplacement de la plaque dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation grâce à l'ensemble de support. Cet ensemble est adapté pour maintenir la plaque essentiellement ou seulement à sa périphérie, laissant libre ainsi la face d'observation de la plaque. Pour maintenir la mise au point, la face d'observation est en appui sur une entretoise reposant sur l'objectif, dans l'axe d'observation. Un tel dispositif est particulièrement adapté à l'analyse rapide d'échantillons.

L'analyse cellulaire rapide sur un grand nombre d'échantillons est une nécessité dans l'industrie pharmaceutique, pour le criblage à haut débit de nouvelles substances actives, et dans l'industrie des cosmétiques, où des modèles cellulaires sont utilisés pour tester des nouvelles substances et
5 contrôler les fabrications. L'analyse biologique d'échantillons est également importante dans les domaines du diagnostic ou de la pharmacogénomique (prédisposition à une pathologie, potentiel répondeur d'un sujet à un traitement, recherche d'allergènes, etc.).

Les dispositifs selon l'invention peuvent être utilisés pour l'analyse
10 rapide d'un grand nombre d'échantillons disposés sur une plaque ou pour l'analyse d'échantillons (ou d'objets) de taille importante, nécessitant la réalisation et le raccordement de plusieurs images. Les échantillons sont typiquement des échantillons biologiques, qui peuvent par exemple comprendre des cellules, en particulier des cellules adhérentes, mammaliennes, procaryotes,
15 végétales, des acides nucléiques, des protéines (ou polypeptides), des virus ou d'autres organismes, par exemple pathogènes, etc. L'échantillon peut également comprendre des particules synthétiques, etc. L'échantillon peut également être un objet de dimension importante, tel qu'une coupe d'un animal (par exemple d'un rongeur) ou d'un organe.

20 Par ailleurs, bien que la description ou les exemples mentionnent plus spécifiquement un appareil de positionnement ou d'analyse mettant en œuvre une plaque, il est entendu que les dispositifs selon la présente demande sont adaptés à l'utilisation de tout support approprié pour des échantillons, tels que, outre des plaques (e.g., des plaques multi-puits), des lames, des membranes,
25 etc.

L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description qui va suivre, donnée uniquement à titre d'exemple et faite en référence aux dessins annexés, sur lesquels :

30 - la Fig. 1 est une vue schématique en coupe dans un plan vertical d'un dispositif d'observation muni d'un dispositif de positionnement d'une plaque d'analyse, conforme à l'invention,

- la Fig. 2 est une vue schématique de dessus du dispositif de positionnement conforme à l'invention,

- la Fig. 3 est une vue de côté du dispositif de positionnement de la Fig. 2,

5 - la Fig. 4 est une vue schématique en coupe dans un plan vertical d'un sabot de positionnement de la plaque d'analyse, avec évidement (Fig 4A) ou sans évidement (Fig. 4B),

10 - la Fig. 5 est une vue schématique en coupe dans un plan vertical d'une came de blocage de la plaque d'analyse, comportant un moyen d'appui sur le piétement de la plaque.

Sur la Fig. 1, on a représenté schématiquement un dispositif d'observation désigné dans son ensemble par la référence 1 et qui comporte un dispositif de positionnement désigné par la référence générale 10 (sabot non représenté) d'une plaque 2 d'analyse d'échantillons biologiques, un objectif 15 d'observation 3, une source 4 d'illumination locale de la plaque 2, une caméra 5 placée en arrière de l'objectif 3 et une unité de traitement d'information, non représentée, tel qu'un micro-ordinateur relié à la caméra 5 et aux moteurs de déplacement des cadres 1 et 2. L'entretoise 40 impose une distance constante 20 entre l'objectif et la face d'observation de la plaque 2. Le dispositif de positionnement 10 comporte un châssis 11 muni d'un ensemble 20 de support de la plaque 2. L'ensemble de support de plaque comporte lui-même trois cadres 21, 22, 23, non représentés, qui assurent le maintien, le déplacement et le positionnement contrôlés et précis de la plaque 2.

25 Un prisme 6 de renvoi du faisceau incident issu de la source 4 est disposé en arrière de l'objectif 3 pour diriger le faisceau incident suivant l'axe optique de cet objectif 3 en direction de l'échantillon.

De même, un prisme 7 ou miroir incliné est prévu en arrière de l'objectif 3 pour dévier le faisceau en sortie de cet objectif 3 vers la caméra 5.

30 Ce dispositif d'observation 1 est adapté pour l'observation rapide d'échantillons contenus dans des puits adjacents 2a de la plaque 2.

Les plaques utilisées pour contenir des échantillons ont une forme générale de plateau. Elles présentent un ensemble d'alvéoles adjacents, appelés puits, dans tout ou partie desquels est contenu l'échantillon. Ces puits sont généralement d'axes parallèles les uns aux autres et s'étendent suivant l'épaisseur de la plaque. Ils débouchent à la surface supérieure de la plaque et sont obturés par un fond formant généralement la face inférieure de la plaque. Les fonds de puits adjacents sont donc généralement reliés les uns aux autres si bien que la face inférieure de cette plaque est essentiellement continue.

Ainsi que représenté à la Fig. 1, la plaque 2 utilisée comporte préférentiellement une face inférieure continue 2b formant le fond des puits 2a et constituant une face d'observation en travers de laquelle les échantillons sont observés.

Les puits 2a s'ouvrent à la surface supérieure de la plaque 2 et ils sont sensiblement cylindriques de section circulaire ou carrée et ont un fond essentiellement plan.

En se reportant maintenant aux Figs 2 et 3, on va décrire plus précisément l'ensemble 20 de support de la plaque 2.

Dans un but de simplification, le bâti 11 a été représenté partiellement sur la Fig. 2.

Cet ensemble 20 de support comporte trois cadres portés les uns par les autres, un premier cadre 21, un deuxième cadre 22 et un troisième cadre 23.

Le premier cadre 21 dont on n'a représenté qu'une partie sur la Fig. 2, est déplaçable à coulissement horizontalement dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation de l'objectif d'observation 3 par rapport au châssis 11 par exemple le long de glissières à billes, non représentées, ou à l'aide de tout autre moyen approprié.

De préférence, ce cadre 21 est déplaçable selon la direction X du repère orthonormé XYZ, comme représenté à la Fig. 2.

Le deuxième cadre 2 supporté par le premier cadre 21 est déplaçable horizontalement à coulissement dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation et dans une direction Y du repère orthonormé XYZ.

Ainsi, le premier cadre 21 et le deuxième cadre 22 sont déplaçables chacun selon une direction perpendiculaire à la direction de déplacement de l'autre cadre.

Le deuxième cadre 22 est déplaçable par rapport au premier cadre 21
5 par exemple le long de glissières à billes 24 ou par tout autre moyen approprié.

Comme on le voit à la Fig. 2, les côtés, respectivement 22a et 22b du cadre 22, s'étendant parallèlement à la direction Y de déplacement de ce cadre 22 comportent chacun un prolongement, respectivement 25a et 25b.

Le troisième cadre 23 est supporté par le deuxième cadre 22 par des
10 moyens de maintien de ce troisième cadre 23 bloquant ledit troisième cadre 23 dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation du dispositif d'observation 3, tout en laissant libre le déplacement dans un plan vertical et selon un angle de pivotement limité.

Pour cela, le troisième cadre 23 comporte sur l'un de ses côtés, par
15 exemple 23a, s'étendant perpendiculairement à la direction Y de déplacement du deuxième cadre 22, deux prolongements parallèles respectivement 26a et 26b s'étendant perpendiculairement audit côté 23a. Les extrémités libres des prolongements 26a et 26b sont reliées par une traverse 27 supportant les brides de fixation de la ou des lames ressort. Il est entendu que le cadre 23 peut être
20 fermé ou ouvert, selon les nécessités de l'environnement.

Les moyens de maintien du troisième cadre 23 comprennent au moins une lame ressort 30 mince formant un pivot entre le deuxième cadre 22 et le troisième cadre 23.

Dans l'exemple de réalisation représenté à la Fig. 2, les moyens de
25 maintien du troisième cadre 23 sont formés par une première lame ressort 30a du type clinquant fixée entre le prolongement 25a du deuxième cadre 22 et le prolongement 26a du troisième cadre 23 et une seconde lame ressort 30b mince également du type clinquant fixée entre le prolongement 25b du deuxième cadre 22 et le prolongement 26b du troisième cadre 23. Ces lames 30a et 30b forment
30 un pivot et s'étendent perpendiculairement à la direction Y de déplacement du second cadre 22. Dans un mode particulier, les moyens de maintien du troisième

cadre sont formés par une lame ressort 30 du type clinquant unique, qui s'étend du prolongement 25a au prolongement 25b auxquels elle est fixée.

Ces lames 30, 30a et 30b déformables en rotation jouent donc le rôle de pivot, tout en empêchant le déplacement du troisième cadre 23 dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation de l'objectif d'observation 3 et en permettant le déplacement de ce troisième cadre 23 selon une direction Z du repère orthonormé, c'est à dire selon l'axe d'observation. En utilisation, le déplacement selon la direction Z s'effectue selon un angle de pivotement limité, qui dépend notamment de la position de la plaque par rapport à l'objectif. Cet angle est typiquement inférieur à $0,5^\circ$. Grâce au dispositif de positionnement selon l'invention, un déplacement vertical de $\pm 150 \mu\text{m}$ se traduit par un déplacement horizontal très faible, de $\pm 0,15 \mu\text{m}$, qui est très inférieur à la taille d'un pixel.

Selon une variante, non représentée, les moyens de maintien du troisième cadre 23 peuvent également être constitués, d'une part, par un axe d'articulation monté entre le deuxième cadre 22 et le troisième cadre 23 et s'étendant perpendiculairement à la direction Y de déplacement du second cadre 22 et, d'autre part, par au moins un ressort de torsion interposé entre lesdits deuxième et troisième cadres de façon à maintenir ce troisième cadre 23 sur le deuxième cadre 22, tout en autorisant son pivotement autour de l'axe d'articulation.

Le dispositif de positionnement comporte également des moyens de blocage de la plaque d'analyse 2 sur le troisième cadre 23 ainsi que des moyens d'immobilisation verticale du troisième cadre 23 pour la mise en place de la plaque d'analyse 2.

Ainsi que représenté à la Fig. 2, les moyens de blocage de la plaque 2 sont formés par des sabots 31 répartis sur le pourtour interne du troisième cadre 23, chaque sabot 31 ou, préférentiellement, un partie d'entre eux, particulièrement ceux disposés sur les cotés du cadre opposés à la came de blocage, comportant un évidement 31a, comme représenté à la Fig. 4, destiné à recevoir le piétement de la plaque 2. Les sabots 31 sont fixés sur le troisième

cadre 23 par des moyens appropriés constitués par exemple par des éléments de vissage 32. Différents jeux de sabots peuvent être utilisés, de manière alternative, adaptés à l'épaisseur du piétement des plaques d'analyse.

5 Les moyens de blocage de la plaque 2 comprennent également une came 33 déplaçable par pivotement autour d'un axe d'articulation vertical 34 entre une position escamotée et une position en saillie à l'intérieur dudit troisième cadre 23 pour bloquer la plaque 2 (Fig. 2). La came est avantageusement munie elle-même d'une vis, dont la tête ou la pointe est réglée pour venir en appui sur le piétement de la plaque 2 (Fig. 5).

10 Les moyens d'immobilisation du troisième cadre 23 pour la mise en place d'une plaque 2 sont formés par deux butées opposées, respectivement 35a et 35b, montées chacune sur un côté, respectivement 21a et 21b, du premier cadre 21 s'étendant parallèlement à la direction Y de déplacement du second cadre 22.

15 Ainsi que représenté à la Fig. 3, les butées 35a et 35b comportent chacune un pan incliné.

Les moyens d'immobilisation du troisième cadre 23 comprennent aussi deux pattes, respectivement 36 et 36b, opposées, montées chacune sur un côté du troisième cadre 23 s'étendant parallèlement à la direction Y de déplacement du second cadre 22.

20 Chaque patte 36a et 36b est destinée à coopérer avec le pan incliné de la butée 35a et 35b correspondante de façon à immobiliser verticalement le troisième cadre 23, comme on le verra ultérieurement.

Enfin, le dispositif de positionnement comporte des moyens d'asservissement de la position verticale de la face d'observation 2b de la plaque d'analyse 2 par rapport à l'objectif d'observation 3.

25 Selon un premier mode de réalisation représenté à la Fig. 1, les moyens d'asservissement sont formés par une entretoise 40 solidaire de l'objectif 3. Cette entretoise 40 définit, à son extrémité libre, une surface pour l'appui de la face inférieure 2b de la plaque 2 dans le voisinage immédiat du fond du puits contenant l'échantillon à observer ou analyser. L'autre extrémité de l'entretoise 40 s'appuie sur l'extrémité de l'objectif 3.

Selon un second mode de réalisation, les moyens d'asservissement de la position verticale de la face d'observation 2b de la plaque d'analyse 2 sont formés par un système de sustentation magnétique ou piézo-électrique de cette plaque 2. L'élément de contrôle du déplacement du troisième cadre 23 selon l'axe d'observation est constitué par le reflet d'un faisceau lumineux, qui peut être celui de la lumière excitatrice, réfléchi sur le fond de la plaque 2 ou par l'interface fond de la plaque-échantillon.

La lumière réfléchie est, dans ce cas, détectée par un groupe de diodes et une boucle d'asservissement assujettit le troisième cadre 23 selon la direction Z de sorte à conserver l'équilibre des signaux sur les diodes.

Pour l'observation du contenu d'une plaque d'analyse 2, l'ensemble de support 20 assure un déplacement de cette plaque 2 dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation pour amener successivement chaque échantillon en regard de l'objectif d'observation. Pendant ce déplacement et pendant l'observation proprement dite d'un échantillon, la plaque 2 est maintenue dans le troisième cadre 23 par les sabots 31 et par la came 33 qui est positionnée en saillie à l'intérieur du troisième cadre 23, comme représenté à la Fig. 2.

De plus, sous l'action du poids de l'équipage mobile (cadre 23 + plaque 2) et des lames 30a et 30b qui exercent une force de rappel, le troisième cadre 23 maintient la face d'observation 2b de la plaque 2 en appui sur l'extrémité de l'entretoise 40 ou à une distance prédéterminée et fixe de l'objectif d'observation 3.

Le déplacement de la plaque 2 dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation, est donc assuré par le premier cadre 21 selon la direction X et par le deuxième cadre 22 selon la direction Y afin d'amener successivement les puits 2a dans l'axe d'observation de l'objectif d'observation 3.

Pour cela, les déplacements des cadres 21 et 22 sont motorisés.

Pour la mise en place d'une nouvelle plaque d'analyse 2, il convient que le troisième cadre 23 soit lui-même immobilisé selon la direction Z.

A cet effet, le deuxième cadre 22 et par conséquent le troisième cadre 23 sont déplacés dans le plan s'étendant perpendiculairement à l'axe

d'observation jusqu'à ce que les pattes 36a et 36b viennent en contact avec les butées 35a et 35b.

Le mouvement selon la direction Y se poursuit si bien que les pattes 36a et 36b glissent sur les pans inclinés des butées 35a et 35b ce qui a pour effet de soulever le troisième cadre 23 et ce cadre 23 vient reposer sur les butées 35a et 35b de façon à l'immobiliser verticalement. A ce moment, la came 33 libère la précédente plaque d'analyse 2 qui peut être manipulée et remplacée par une autre plaque d'analyse 2.

Le mouvement de la came 33 peut être couplé mécaniquement ou électriquement avec le déplacement du troisième cadre 23, par des moyens appropriés. En particulier, elle peut porter un ergot actionné par une butée solidaire du cadre 21. Le mouvement de la came 33 peut également être réalisé manuellement.

Lors de la pose d'une nouvelle plaque d'analyse, la plaque 2 est tout d'abord posée sur les sabots 31, puis la came 33 pousse cette plaque 2 dont le piètement vient s'engager dans les évidements 31a des sabots 31. La came 33 elle-même appuie sur le piètement de la plaque 2 interdisant tout mouvement de cette plaque 2 par rapport au troisième cadre 23. Le mouvement se poursuit selon Y, le cadre 23 et la plaque 2 solidaires descendent le long des butées 35a et 35b, jusqu'à ce que la face d'observation de la plaque 2 entre en contact avec l'entretoise 40. Les acquisitions d'images peuvent alors commencer.

Le dispositif de positionnement selon l'invention permet non seulement d'assurer un positionnement correct de la plaque d'analyse et de ce fait des puits devant l'objectif, mais également de reproduire ce positionnement lors de mesures répétées, tout en maintenant la mise au point, ce qui permet d'effectuer de véritables cinétiques sur des cellules individuelles ou d'effectuer des images sur des régions différentes d'un échantillon de grande taille, en vue de leur raccordement pixel à pixel.

Les dispositifs et procédés de l'invention peuvent être utilisés pour l'analyse d'échantillons d'origine et de nature diverses, marqués selon toute technique connue de l'homme du métier. Il peut s'agir notamment d'échantillons

comprenant des cellules d'origine mammifère (animale ou humaine, par exemple cellules nerveuses, tumorales, immunitaires, etc.), bactérienne, végétale, de levure, d'organismes pathogènes, de virus, de tout échantillon ou prélèvement biologique, de coupes d'organes ou d'animaux entiers, etc. Les procédés et
5 dispositifs sont adaptés à l'analyse ou la détection de polypeptides, acides nucléiques, lipides, etc. Ils sont particulièrement utilisables pour la mesure de l'effet de composés tests, notamment de bibliothèques de produits, sur des populations de cellules, par exemple dans des tests à haut débit de l'efficacité, la sélectivité ou la toxicité de produits.

10 Ainsi, dans un mode particulier, l'invention réside également dans une méthode d'analyse (ou de criblage) à haut débit utilisant un dispositif tel que décrit ci-avant, plus particulièrement dans lequel l'échantillon est composé d'une population de cellules mise en contact avec un colorant fluorescent représentatif d'une fonction cellulaire (e.g., prolifération, croissance, maturation,
15 différenciation, mort, survie, apoptose, etc.), l'échantillon étant mis en contact, dans des puits séparés d'une plaque, avec des composés d'une collection test, les composés faisant varier l'intensité du marquage de fluorescence étant mis en évidence. La population de cellules est par exemple une population de neurones, notamment d'origine humaine ou animale.

20 Dans un mode particulier, le colorant fluorescent est associé à un anticorps associé à un antigène cellulaire. Ces anticorps couplés sont disponibles dans le commerce, par exemple ceux produits par la société Immunotech (Marseille, France).

Selon un autre mode de mise en œuvre, l'invention réside dans un
25 procédé de détection de la présence (ou de la quantité) d'une bactérie dans un ou plusieurs échantillons, comprenant la mise en contact de chaque échantillon avec un marqueur de la bactérie, et l'analyse de la présence du marquage au moyen d'un dispositif tel que décrit ci-avant. Ces marqueurs peuvent être très spécifiques de la bactérie, comme les sondes d'acides nucléiques spécifiques du
30 génome bactérien associées à des marqueurs de fluorescence, ou non spécifiques tels que l'acridine orange et tous les colorants des acides

nucléiques. On les trouve en abondance dans le commerce, voir par exemple le catalogue Molecular Probes (Eugene, Oregon, USA).

Selon un autre mode de mise en œuvre, l'invention réside dans un procédé de détection de la présence (ou de la quantité) d'un virus dans un ou
5 plusieurs échantillons, comprenant la mise en contact de chaque échantillon avec un marqueur spécifique du virus, et l'analyse de la présence du marquage au moyen d'un dispositif tel que décrit ci-avant.

Selon un autre mode de mise en œuvre, l'invention réside dans un procédé d'analyse d'une coupe totale ou partielle d'un organe ou d'un animal,
10 comprenant l'analyse, au moyen d'un dispositif tel que décrit ci-avant, de la présence d'un marqueur dans différentes régions de la coupe. L'organe peut être tout tissu ou organe d'intérêt, tel que fois, rein, cœur, poumon, cerveau, cervelet, rate, etc. L'animal peut être tout animal non-humain, tel qu'un mammifère, insecte, etc., par exemple un rongeur.

15

Selon un autre mode de l'invention, le dispositif comporte des filtres sur le trajet de la lumière de fluorescence qui délimitent des zones spectrales, par exemple des filtres dichroïques à 530, 585, et 650 nanomètres permettent d'utiliser jusqu'à quatre marqueurs fluorescents différents, avec une seule
20 excitation à 488 nm, ainsi qu'on le pratique en cytométrie de flux. Ces colorants permettent l'analyse de plusieurs paramètres sur la même cellule. De même le faisceau d'excitation peut associer deux sources, soit simultanément, au moyen d'un miroir dichroïque, soit successivement au moyen d'un miroir ordinaire mobile ou encore par séparation des angles solides d'excitation, ce qui étend
25 encore les possibilités de l'analyse multiparamétrique.

L'invention peut également être utilisée pour l'analyse de marquage sur billes, notamment d'interactions protéine-protéine, de complexes immuns, d'hybridations, etc.

Le mode d'acquisition à plusieurs longueurs d'onde est ici
30 particulièrement avantageux, puisqu'il permet la discrimination de plusieurs catégories de particules. Si ces particules sont de taille homogène on peut distinguer des particules présentant des niveaux quantifiés de colorant

fluorescent, par exemple une dizaine de niveaux différents. Ces particules peuvent être le siège de réactions analytiques, par exemple d'immunoanalyse, la réaction associée à chaque catégorie de particules peut être quantifiée par un autre marqueur, émettant à une autre longueur d'onde, la même pour toutes les réactions. On peut enregistrer ainsi autant de réactions analytiques différentes que l'on peut distinguer de catégories de particules.

Une autre utilisation de ce type de particules est le codage, lorsqu'elles sont associées à un processus de synthèse combinatoire. L'analyse des particules est le fidèle reflet du composé chimique associé, le contrôle de l'identification pouvant se faire en dehors du laboratoire où s'effectue la mesure, par transmission électronique des données.

Dans une autre utilisation, une population homogène de particules fluorescentes est utilisée pour définir une surface de correction pour l'énergie d'excitation, qui n'est pas uniforme sur tout le champ d'observation ; en particulier, les lasers présentent une distribution gaussienne de l'énergie. La mesure de l'énergie réémise par chaque particule reflète le niveau de l'énergie d'excitation au point où elle se trouve. Avec un petit nombre de particules réparties au hasard sur la surface observée, il est possible de définir une surface, par interpolation, qui servira ensuite à normaliser les niveaux des pixels observés sur des échantillons inconnus. Une surface émettrice uniforme peut aussi servir à cette normalisation.

L'invention peut encore être utilisée pour analyser les dépôts d'acides nucléiques après hybridations avec des sondes, notamment sur puce, microarrays, etc. Il peut s'agir notamment de dépôts d'ADN après hybridation par des séquences correspondantes d'ADN ou d'ARN, issus d'une cellule ou d'un échantillon, et marqués par un élément fluorescent. Ces dépôts se présentent préférentiellement en arrangements réguliers présentant jusqu'à 5000 dépôts qui peuvent être lus en une seule fois par le dispositif. Plusieurs blocs de dépôts placés côte à côte peuvent être lus séquentiellement.

L'invention peut aussi être utilisée pour analyser des dépôts de polypeptides (par exemple de protéines), notamment sur le fond du support (par exemple le fond d'une plaque), une puce, des microarrays, etc., révélés par des

anticorps ou autres ligands marqués, typiquement fluorescents. Il peut s'agir notamment de dépôts d'allergènes, d'antigènes bactériens, d'antigènes auto-immuns, d'antigènes spécifiques de tumeurs, etc., éventuellement en combinaison(s). Ces dépôts se présentent préférentiellement en arrangements réguliers présentant jusqu'à 5000 dépôts. Les dépôts sont typiquement mis en contact avec un échantillon biologique d'un sujet pour lequel on souhaite rechercher la présence d'anticorps dirigés contre l'un ou plusieurs de ces polypeptides. Les échantillons sont ensuite incubés avec un deuxième réactif révélateurs, par exemple un anticorps fluorescent, et les résultats peuvent être analysés en une seule fois par le dispositif. Plusieurs blocs de dépôts placés côte à côte peuvent être lus séquentiellement.

REVENDEICATIONS

1. Dispositif de positionnement d'une plaque (2) comprenant un ou des échantillons sur un dispositif d'observation ou d'analyse comportant un objectif d'observation ou d'analyse (3) d'au moins une partie d'un échantillon
5 suivant un axe d'observation depuis une face d'observation (2b) de la plaque (2) et un châssis (11) muni d'un ensemble (20) de support de la plaque (2), caractérisé en ce que cet ensemble (20) de support comprend :

- un premier cadre (21) déplaçable à coulissement dans un plan perpendiculaire à l'axe d'observation,
- 10 - un deuxième cadre (22) supporté par le premier cadre (21) et déplaçable à coulissement dans ledit plan perpendiculaire à l'axe d'observation, les premier et deuxième cadres (21 ; 22) étant déplaçables selon une direction perpendiculaire à la direction de déplacement de l'autre cadre, et
- un troisième cadre (23) supporté par le deuxième cadre (22) par
15 des moyens (30) de maintien de ce troisième cadre (23) bloquant ledit troisième cadre (23) dans le plan perpendiculaire à l'axe d'observation, tout en laissant libre le déplacement du troisième cadre (23) essentiellement selon l'axe d'observation, ledit troisième cadre (23) étant pourvu de moyens (31, 33) de blocage de la plaque (2).

20 2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comporte des moyens (35a, 35b ; 36a, 36b) d'immobilisation verticale du troisième cadre (23) pour la mise en place de la plaque d'analyse (2).

3. Dispositif selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comporte des moyens (40) d'asservissement de la position verticale de la face
25 d'observation (2b) de la plaque (2) par rapport à l'objectif d'observation (3).

4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que les moyens de maintien du troisième cadre (23) comprennent au moins une lame ressort (30a ; 30b) mince formant un pivot, située préférentiellement dans le plan d'observation, ladite lame ressort (30a ;
30 30b) étant reliée respectivement au deuxième cadre (22) et au troisième cadre (23).

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que les moyens de maintien du troisième cadre (23) comprennent, d'une part, un axe d'articulation monté entre les deuxième et troisième cadres (22 ; 23) s'étendant de préférence perpendiculairement à la direction de déplacement du second cadre (22) et, d'autre part, au moins un ressort de torsion interposé entre lesdits deuxième et troisième cadres (22 ; 23).

6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les moyens de blocage de la plaque (2) sont formés par des sabots d'appui (31) répartis sur le pourtour interne du troisième cadre (23) et une came (33) montée sur le troisième cadre (23) et déplaçable par pivotement entre une position escamotée et une position en saillie à l'intérieur du troisième cadre (23) pour bloquer la plaque (2).

7. Dispositif selon la revendication 6, caractérisé en ce que la came comporte une vis dont la tête ou la pointe peut reposer sur le piétement de la plaque.

8. Dispositif selon la revendication 6 ou 7, caractérisé en ce que une partie des sabots comportent un évidement destiné à recevoir le piétement de la plaque.

9. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les moyens d'immobilisation du troisième cadre sont formés par deux butées opposées (35a, 35b), montées chacune sur un côté du premier cadre (21) s'étendant parallèlement à la direction de déplacement du second cadre (22) et par deux pattes (36a, 36b) opposées et fixées chacune perpendiculairement à un côté du troisième cadre (23) s'étendant parallèlement à ladite direction, chaque butée (35a, 35b) comportant un pan incliné destiné à coopérer avec l'extrémité libre de la patte (35a, 36b) correspondante lors du déplacement dans cette direction des deuxième et troisième cadres (22 ; 23).

10. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que les moyens d'asservissement sont formés par une entretoise (40) fixe par rapport à l'objectif d'observation (3) et présentant une surface d'appui de la face d'observation (2b) de la plaque (2).

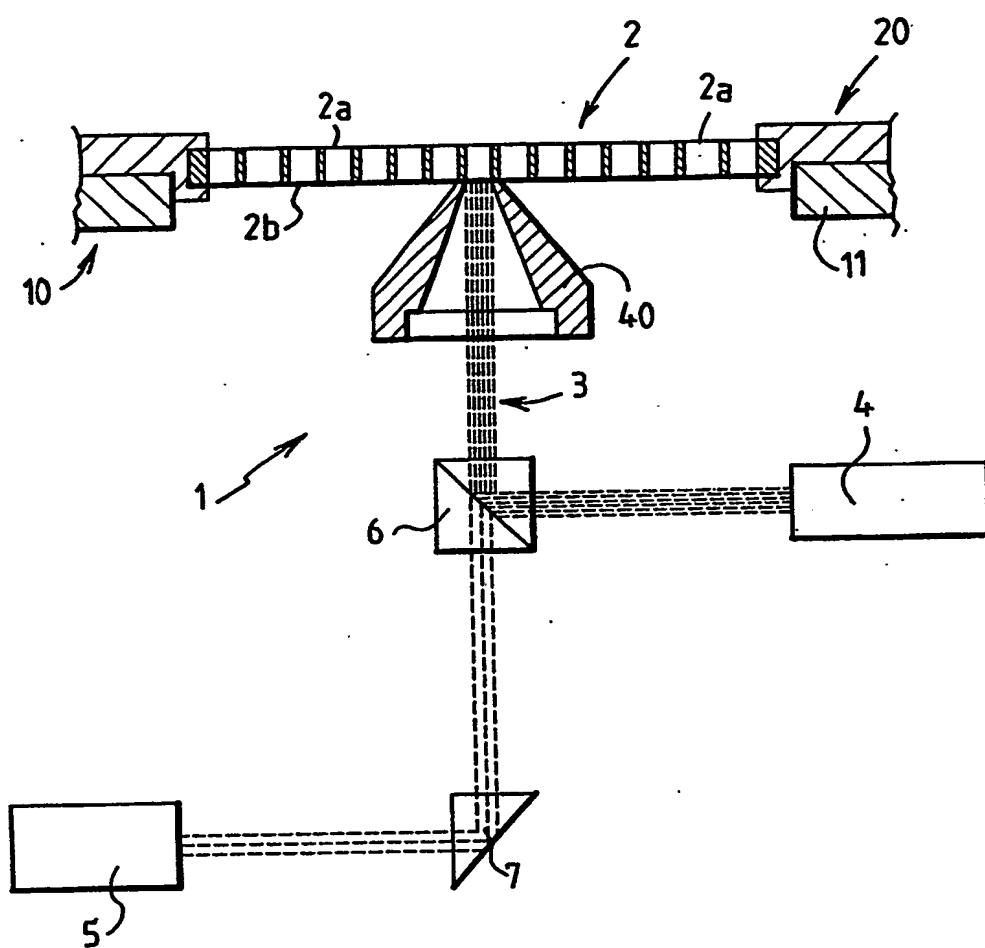
11. Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que les moyens d'asservissement sont formés par un système de sustentation magnétique ou piézoélectrique de la plaque (2).

5 12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les déplacements du premier et du second cadres (21 ; 22) sont motorisés.

10 13. Dispositif d'observation ou d'analyse d'échantillons, caractérisé en ce qu'il comprend un dispositif de positionnement d'une plaque selon l'une des revendications 1 à 12, une source d'illumination d'au moins une partie d'un échantillon et des moyens d'acquisition d'une image.

14. Dispositif selon la revendication 13, caractérisé en ce que la source d'illumination est une lampe, un laser ou un ensemble de diodes électroluminescentes.

1/4

FIG.1

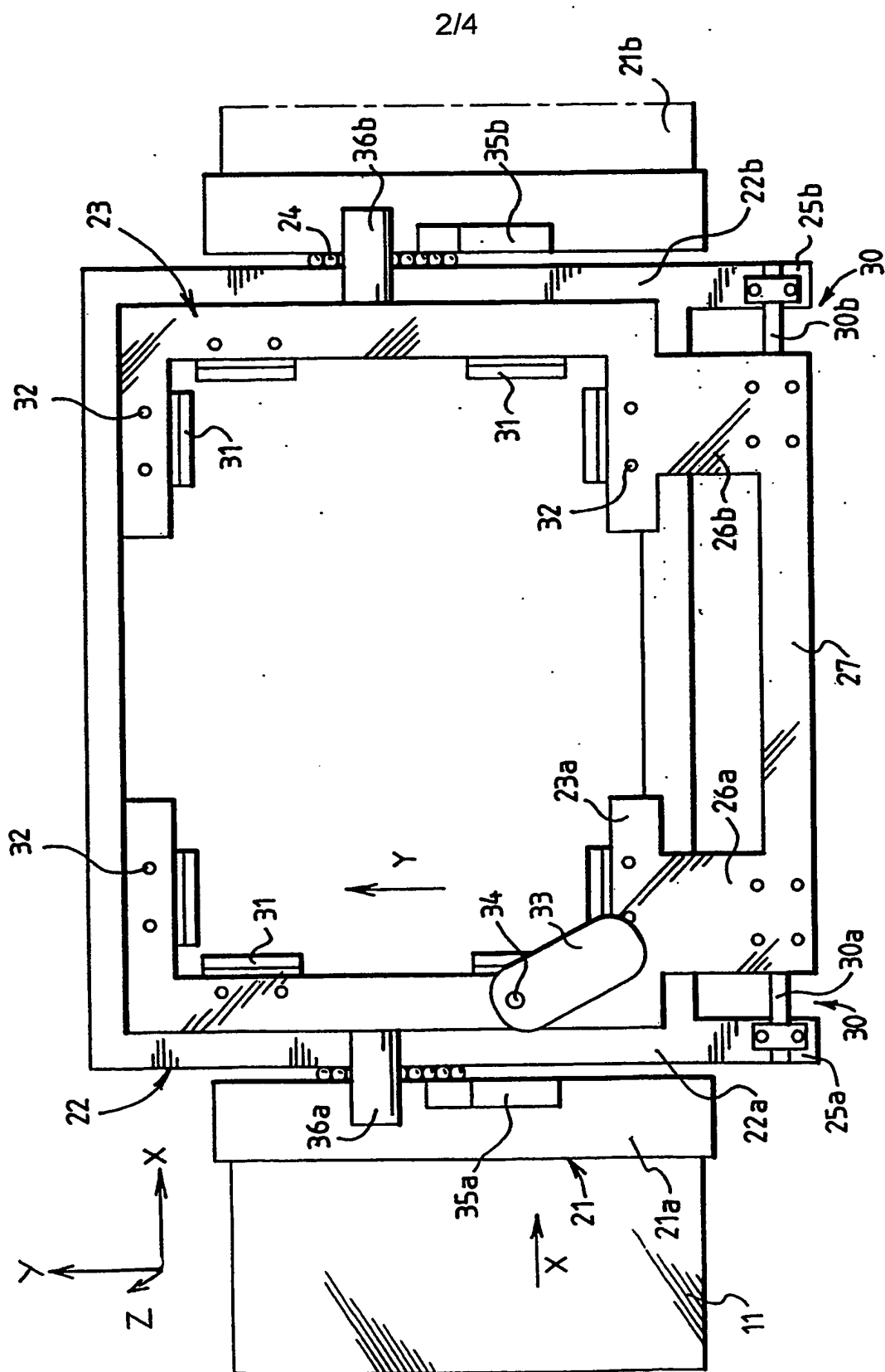
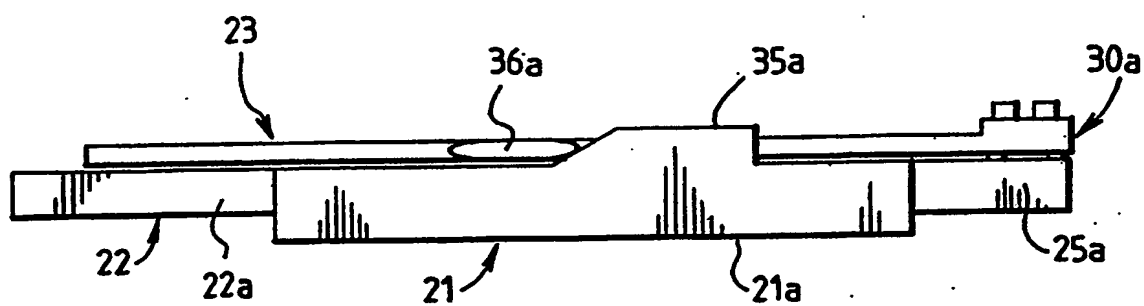
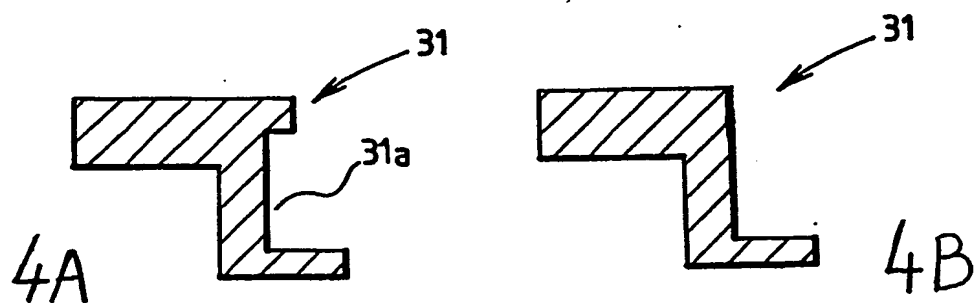


FIG. 2

3/4

FIG. 3FIG. 4

4/4

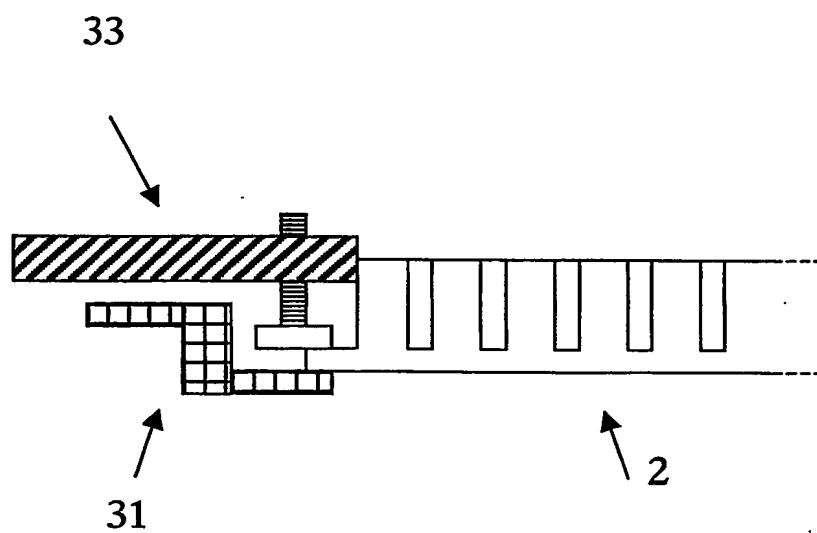


FIG. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. I Application No

PCT/EP 03/00045

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G02B21/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 684 628 A (GERHARD GREGORY J) 4 November 1997 (1997-11-04) column 3, line 58 -column 5, line 7; figure 2	1-14
X	US 3 652 146 A (GEORGE DAVID SYDNEY) 28 March 1972 (1972-03-28) column 2, line 12 -column 3, line 14; figure 2	1-14
X	US 5 812 310 A (STEWART JOHN P ET AL) 22 September 1998 (1998-09-22) column 3, line 13 -column 4, line 56; figure 2	1-14
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 April 2003

Date of mailing of the international search report

14/04/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sarneel, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern

Application No

PCT/TR 03/00045

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 808 888 A (TROPHOS) 16 November 2001 (2001-11-16) cited in the application the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nation on patent family members

Intern: I Application No

PCT/FR 03/00045

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5684628	A	04-11-1997	NONE	
US 3652146	A	28-03-1972	DE 2053020 A1 GB 1270566 A	27-05-1971 12-04-1972
US 5812310	A	22-09-1998	NONE	
FR 2808888	A	16-11-2001	FR 2808888 A1 EP 1285301 A1 WO 0188593 A1	16-11-2001 26-02-2003 22-11-2001

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 G02B21/26

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 G02B

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents.	no. des revendications visées
X	US 5 684 628 A (GERHARD GREGORY J) 4 novembre 1997 (1997-11-04) colonne 3, ligne 58 -colonne 5, ligne 7; figure 2 ---	1-14
X	US 3 652 146 A (GEORGE DAVID SYDNEY) 28 mars 1972 (1972-03-28) colonne 2, ligne 12 -colonne 3, ligne 14; figure 2 ---	1-14
X	US 5 812 310 A (STEWART JOHN P ET AL) 22 septembre 1998 (1998-09-22) colonne 3, ligne 13 -colonne 4, ligne 56; figure 2 ---	1-14
	-/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 avril 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

14/04/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Sarnee1, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema internationale No

PCT/FR 03/00045

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMMUNICATIFS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>FR 2 808 888 A (TROPHOS) 16 novembre 2001 (2001-11-16) cité dans la demande le document en entier</p>	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs au

nbres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 03/00045

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5684628	A -	04-11-1997	AUCUN	
US 3652146	A	28-03-1972	DE 2053020 A1 GB 1270566 A	27-05-1971 12-04-1972
US 5812310	A	22-09-1998	AUCUN	
FR 2808888	A	16-11-2001	FR 2808888 A1 EP 1285301 A1 WO 0188593 A1	16-11-2001 26-02-2003 22-11-2001